

(19) 日本国特許庁 (JP)

## (12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2000-515407  
(P2000-515407A)

(43) 公表日 平成12年11月21日 (2000.11.21)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>A 6 1 B 1/00  
1/303  
1/307  
1/31  
10/00識別記号  
3 0 0

F I

A 6 1 B 1/00  
10/00  
1/303 0 0 D  
N

7-73-1\* (参考)

(21) 出願番号 特願平10-508023  
 (86) (22) 出願日 平成9年7月31日 (1997.7.31)  
 (85) 韶文提出日 平成11年2月1日 (1999.2.1)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US97/13300  
 (87) 國際公開番号 WO98/05253  
 (87) 國際公開日 平成10年2月12日 (1998.2.12)  
 (31) 優先権主張番号 08/693,471  
 (32) 優先日 平成8年8月2日 (1996.8.2)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (81) 指定国 EP (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), CA, JP

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 43 頁)

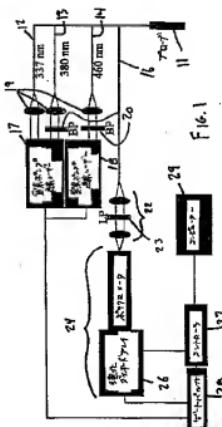
(71) 出願人 ポード オブ リージェンツ, ザ ニューバーシティ オブ テキサス システム  
 アメリカ合衆国 テキサス 78701, オースティン, ウエスト 7 ティーエイチ ストリート 201  
 (72) 発明者 リチャーズーコルツム, レベッカ  
 アメリカ合衆国 テキサス 78739, オースティン, ウエイル ブリッジ レーン 6410  
 (74) 代理人 弁理士 山本 秀策

最終頁に続く

(54) [発明の名稱] 上皮被覆内臓組織の特徴付けのための方法および装置

## (57) [要約]

例えば子宮頸管などを含む上皮被覆内臓の組織を特徴付ける方法および装置である。この方法は、内臓の内面に電磁放射線波長を照射して、複数の蛍光強度スペクトルを生成する工程と、蛍光強度スペクトルから複数の発光波長を検出する工程と、上皮内臓組織を発光波長の閾値として特徴付ける工程とを包含する。この装置は、複数の電磁照射波長を照射する光源(17, 18)と、光源に接続された光プローブ(11)であって、複数の電磁放射線波長を、試験されている上皮内臓組織の内面に与え、且つ、組織から発せられる蛍光を集光するように適合されているプローブ(11)と、プローブに接続され、試験されている組織から発せられる少なくとも1つの蛍光スペクトルを検出するための検出器(24, 26)と、検出器に接続され、少なくとも1つの蛍光スペクトルを所定のアルゴリズムに従って処理し、試験されている組織の特徴付けを行なうプログラムされたコンピュータ(29)とを備える。



**【特許請求の範囲】**

1. インビポにおける子宮頸管組織を特徴付ける方法であって、
  - (ii)インビポで子宮頸管組織に電磁放射線波長を照射し、複数の蛍光強度スペクトルを生成する工程と、
    - (iii)該蛍光強度スペクトルから複数の発光波長を検出する工程と、
    - (iv)該子宮頸管組織を、該発光波長の関数として特徴付ける工程とを包含する、方法。
2. 前記特徴付ける工程が、扁平上皮組織と円柱上皮組織とを識別する、請求項1に記載の方法。
3. 前記照射工程および前記検出工程が、  
前記子宮頸管組織の実質的に円筒形の領域を照射する工程と、該円筒形の領域の選択された部分からの前記複数の発光波長を検出する工程とを包含する、請求項1に記載の方法。
4. 前記照射工程および前記検出工程が、
  - a)シングルピクセルの近傍にある前記子宮頸管の領域を照射する工程と、
  - b)該シングルピクセルからの前記複数の発光波長を検出する工程と、  
該工程a)およびb)を繰り返して、前記円筒形の表面を実質的にカバーする工程とをさらに包含する、請求項3に記載の方法。
5. 前記照射工程および前記検出工程が、
  - a)前記子宮頸管の実質的にリング形状の領域を照射する工程と、
  - b)該実質的にリング形状の領域からの前記複数の発光波長を検出する工程と、  
該工程a)およびb)を繰り返して、前記円筒形の表面を実質的にカバーする工程とをさらに包含する、請求項3に記載の方法。
6. 前記照射工程および前記検出工程が、
  - a)前記子宮頸管の実質的に線形状の領域を照射する工程と、
  - b)該実質的に線形状の領域からの前記複数の発光波長を検出する工程と、  
該工程a)およびb)を繰り返して、前記円筒形の表面を実質的にカバーする工程とをさらに包含する、請求項3に記載の方法。

7. 前記電磁放射線波長が、317～357nm、360～400nmおよび440～480nmの範囲にある、請求項1に記載の方法。
8. 前記電磁放射線波長が、約337nm、約380nmおよび約460nmである、請求項7に記載の方法。
9. 前記特徴付ける工程が、正常の扁平組織と異常組織とを識別する、請求項1に記載の方法。
10. 前記特徴付ける工程が、正常の円柱上皮組織と異常組織とを識別する、請求項1に記載の方法。
11. 前記特徴付ける工程が、炎症組織と異常組織とを識別する、請求項1に記載の方法。
12. 前記特徴付ける工程が、低段階SIL組織と高段階SIL組織とを識別する、請求項1に記載の方法。
13. 前記特徴付ける工程が、正常の組織と高段階SIL組織とを識別する、請求項1に記載の方法。
14. インビボで上皮被覆内臓組織を特徴付ける方法であって、
  - (ii)インビボで上皮被覆内臓組織に電磁放射線波長を照射し、複数の蛍光強度スペクトルを生成する工程と、
    - (iii)該蛍光強度スペクトルから複数の発光波長を検出する工程と、    - (iv)該上皮被覆内臓組織を、該発光波長の関数として特徴付ける工程とを含むする、方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 上皮被覆内臓組織の特徴付けのための方法および装置

## 発明の背景

本発明は、上皮被覆内臓を検査する装置および方法に関し、より詳細には、子宮頸管の正常および形成異常組織を特徴付ける装置および方法に関する。

女性の下部生殖管の組織侵入前症状のうちで最も蔓延しているものは頸部上皮内新形成(CIN)である。従来の定義ではこれを上皮内変化スペクトルと呼んでいる。このスペクトルは、従来、非常に軽度の形成異常として分類されてきた概ね良好分化した上皮内新生物(neoplasm)から始まり浸潤性癌で終わる。肺瘍性の変化は、扁平上皮に局限され、そして核多形性、極性の損失、および異常に糸分裂の存在を含む。CINは、基底膜から表面上皮まで存在する未分化細胞の量に基づいて、1から3まで段階分けされる。その距離の3分の1が関与している場合、段階は1であり、3分の1よりも多く且つ3分の2までが関与している場合、段階は2であり、3分の2よりも多くが関与している場合、段階は3である。表面上皮から基底膜までの全部の厚さが関与している場合、上皮内癌(CIS)と呼ばれる。CINからCISへの移行時間の中央値はCINの段階に依存し、段階1のCINの場合、この時間は約6年であり、段階2のCINの場合、この時間は約2年であり、そして段階3のCINの場合、この時間は約1年である。2つの区別可能な実体を表すCINおよびCISについての過去における幾分の議論にも関わらず、現在では、CINおよびCISは、頸部の浸潤癌に至る疾患のスペクトルの一部であると考えられている。従って、CINの診断および処置は、浸潤頸部癌の予防の一部である。頸部組織を分類する認められた方法の1つは、Wrightらの「Pathology of the Female Genital Tract」、156-177、Springer-Verlag、(1994)に記載されている新ベセズダシステム(new Bethesda system)である。このシステムによれば、HPVおよびCINを伴う病変は扁平上皮内病変(SIL)として分類され、さらに、これは、高い段階のSIL(CIN III、

CIN III、CIS)と低い段階のSIL(CIN I、HPV)とに分けられ得る。正常、異形成および非特異的炎症組織は非SILとして分類される。

頸部上皮内新形成は、通常、無症候性の女性からのPapスミアをスクリーニングすることによって検出される。異常なPapスミアを持つ患者には、コルポスコピーおよび可能であれば生検を受けさせる。酢酸を頸部に塗布すると、CINのような異常DNA含有領域は白くなる。搭載された拡大レンズであるコルポスコープを用いて、異常な白色領域の生検材料を指向する。血管異型性と呼ばれる血管の異常構造は、無秩序増殖の徵候であり、医師が他のどの領域に生検が必要かを知るための一助となる。異常なPapスミアの適切な評価は、照会の見直しおよびPapスミアの反復、頸管内搔爬および酢酸白色領域の複数回にわたる生検を含み、このような分析の結果は、患者がCINを有しているかどうかを示す。

コルポスコピーの予測精度は、当該分野において議論の対象であり、全体的な精度が優れているとする研究者らもいるが、CINに対しては精度が低く、コンジロームに対して良好であるとする研究者らもいる。

近年、ヒト組織における疾患の診断のための光学的分光法の使用を探求するための研究が盛んに行われている。いくつかの研究によって、様々な器官系における疾患診断のために蛍光、赤外線吸収およびラマン分光法を使用できることが首尾良く実証されている。自発および色素誘発蛍光は、アテローム硬化症および様々な種類の癌の認識に有望であることが分かっている。ヒトの胸部および肺、膀胱および消化管からの正常および異常組織を区別するために、多くのグループが自発蛍光(autofluorescence)を用いている。

本願と同一譲受人に譲渡された1996年7月19日に出願の同時係属中特許出願第08/666,021号は、疾患(前癌性および癌性)組織を非疾患(正常組織および炎症)組織から区別するとともに、インビトロにおけるヒト頸部の癌および高い段階の前癌を低い段階の前癌病変から区別するために蛍光分光法を用いるシステムを開示している。このシステムは、1)蛍光測定、ひいては診断情報がリアルタイムで得られる点、および2)この技術が非侵襲性である点で、より効果的な患者管理を提供する。スペクトルのUVおよび可視領域にわたって頸部生検材料から蛍光を

測定したインビトロ研究によって、組織学的に異常な頸部の蛍光強度が、同じ患

者からの正常な頸部のそれよりも有意に低いことが分かっている。上記の同時係属中の特許出願によれば、上記システムは、ファイバ光プローブと、照射源と、光学的マルチチャネル分析装置とを含む。このプローブは、その先端が頸部表面と同一平面になるまで腔内管を通して挿入される。このプローブは、特定の励起波長で光を送達し、そして頸部の所定の領域から全発光波長範囲から蛍光を集光する。コルポスコピーの間、生検の前に頸部のコルポスコピー的に異常な各領域、および1～4カ所のコルポスコピー的に正常な領域からスペクトルを収集する。このシステムを用いて、337、380および460nm励起において、インビボにおける、ヒト頸部組織から取得したレーザー誘起蛍光を分析し、これにより、頸部上皮内新形成(CIN)を特定する。

以前のコルポスコピーおよび蛍光分光システムの制限は、それらが子宮頸内膜を採取できることである。異型性コルポスコピー組織パターンが、子宮頸内管内において扁平および円柱上皮間の移行帯においてある頻度で生じることが知られている。Burke L, Antonioli DAおよびDucatman BS. Colposcopy, Text and Atlas, pp. 47, 48, 61および62, Appleton and Lange, Norwalk CT(1991)を参照されたい。この(扁平円柱上皮境界としても知られている)移行帯は、多くの場合、子宮頸管の奥に位置しており、子宮腔部を評価することを主に意図した既存のシステムを用いては容易にコルポスコピーまたは蛍光分光法に供することができない。さらに、子宮腔部上に存在する頸部病変は、多くの場合子宮頸管内へと延びており、子宮頸管内の病変の特徴付けが重要である場合が多い。

従って、移行帯を含む子宮頸管を蛍光分光法に供するための手段を提供することが望まれる。

#### 発明の要旨

本発明は、例えば子宮頸管を含む上皮被覆内膜の組織を特徴付ける方法および装置を提供することにより、従来技術の上記の欠点を回避する。特に、本発明を具現化する方法によれば、子宮頸管組織は、インビボで子宮頸管組織に電磁放射線波長を照射して、複数の蛍光強度スペクトルを生成する工程、蛍光強度スペク

トルから複数の発光波長を検出する工程、および子宮頸管組織を、発光波長の関

数として特徴付ける工程により、インピボで特徴付けられる。上記特徴付ける工程は、扁平上皮組織および円柱上皮組織、正常の扁平組織および異常組織、正常の円柱上皮組織および異常組織、炎症組織および異常組織、低段階SIL組織および高段階SIL組織、または正常の組織および高段階SIL組織を識別し得る。

さらに、上記照射工程および上記検出工程は、子宮頸管組織の実質的に円筒形の領域を照射する工程と、この円筒形の領域の選択された部分からの複数の発光波長を検出する工程とを包含し得る。上記照射工程および上記検出工程は、1つのピクセルの近傍にある子宮頸管の領域を照射する工程と、この1つのピクセルからの複数の発光波長を検出する工程と、この照射工程および検出工程を繰り返して、円筒形の表面を実質的にカバーする工程とをさらに包含し得る。別の実施形態では、上記照射工程および上記検出工程は、子宮頸管の実質的にリング形状の領域を照射する工程と、この実質的にリング形状の領域からの複数の発光波長を検出する工程と、この照射工程および検出工程を繰り返して、上記円筒形の表面を実質的にカバーする工程とをさらに包含し得る。他の実施形態では、上記照射工程および上記検出工程は、子宮頸管の実質的に直線形状の領域を照射する工程と、この実質的に線形状の領域からの複数の発光波長を検出する工程と、この照射工程および検出工程を繰り返して、上記円筒形の表面を実質的にカバーする工程とをさらに包含し得る。

さらに、本発明の方法を実施するために使用される電磁放射線波長は、317～357nm、360～400nmおよび440～480nmの範囲であり得る。

さらに、本発明を具体化する、子宮頸管組織の特徴付けを行う装置は、複数の電磁放射線波長を発光する光源と；光源に接続され、複数の電磁放射線波長を、試験中の子宮頸管組織の内表面に印加し、試験中の組織から発せられる蛍光を集光するようにされたプローブと；プローブに接続され、試験中の組織から発せられる少なくとも1つの蛍光スペクトルを検出する検出器と；検出器手段に接続され、該少なくとも1つの蛍光スペクトルを所定のアルゴリズムに従って処理し、これにより試験中の組織の特徴付けを行う、プログラムされたコンピュータとを備える。

光源は、レーザ光源またはフィルタリング処理された白色光源であり得、そして複数の電磁放射線波長は約337nm、約380nmおよび約460nmであり得る。プローブは、複数の電磁波長を試験中の子宮頸管組織の内表面に印加するための励起光ファイバと、試験中の子宮頸管組織から発せられる蛍光を集光するための集光ファイバとを含み得る。

本発明の上記のおよび他の特徴および利点は、以下の詳細な説明を参照すれば当業者には明瞭となり得る。

#### 図面の簡単な説明

図1は、本発明の方法を実行するために使用可能な本発明の装置の例である。

図2は、本発明の方法を実行するために使用可能な本発明の装置の別の例である。

図3A～3Fは、子宮頸管の様々な状態を示す。

図4Aおよび図4Bは、本発明で使用可能なシングルピクセルプローブの例である。

図5は、本発明で使用可能なシングルピクセルプローブの別の例示的な実施形態である。

図6～図11は、本発明で使用可能なリングプローブの様々な例示的な実施形態である。

図12A～図12Bは、本発明で使用可能なラインプローブの例示的な実施形態である。

図13は、子宮頸管のサイズの研究のグラフ表示である。

図14および図15は、頸管粘液の光伝送および励起発光を示すグラフである。

図16および図17は、フッ化エチレンーブロピレン(FEP)の光伝送および励起発光を示すグラフである。

図18、図19および図20は、子宮頸管組織から得られる蛍光スペクトルの例である。

#### 詳細な説明

### 測定装置

図1および図2は、本発明の方法を実施するために使用可能な本発明の装置の例示的な実施形態を示す。

先ず図1を参照して、シングルピクセル光プローブを用いる装置が開示される。シングルピクセルプローブの例示的な実施形態については、図4および図5を参照して後により詳細に述べる。装置は、子宮頸管プローブ11を含む。プローブ11は、後により詳細に述べるように、励起ファイバ12、13および14ならびに集光ファイバ16を含む多数の光ファイバを組み込んでいる。励起ファイバは、例えば、染料モジュールと共に、2つの空素レーザ17、18(LN300C, Laser Photonics)であり得る照射源に接続される。他の照射源、例えば、キセノンランプおよびフィルタホイール(図2を参照してより詳細に開示されている)もまた用いられ得る。例えば、染料モジュールと共にまたは染料モジュールを持たないで使用される様々なタイプのレーザ(例えば、HeCdまたはAgレーザ)、およびフィルタホイールと共に用いられる様々なタイプのいわゆる白光光源(例えば、Xe、HgまたはXeHgランプ)を含む他の照射源もまた受容可能であり得る。この照射源は、組織内で蛍光を生成するそれらの能力について選択され、組織の特徴付けを可能にする周波数の光を生成する。例えば、約337、380および460ナノメータの光が有用であることが分かっている。この光は、励起ファイバ12、13、14に結合される。結合のためには、標準的なMicrobench構成要素(Spindler Hoyer)および平凸レンズ19を使用した。2つの染料モジュールから出る光は、バンドパスフィルタ21によってバンドパスフィルタリング処理され、励起ファイバ12、13および14に結合される染料からの蛍光を最小限にする。集光ファイバ16は、結合光学装置22(例えば、Microbench、倍率50/30)を介して検出器24、例えばF/3.8分光器(Monospec 18, Thermo Jarrel Ash, Scientific Measurement Systems, Inc.)に投射される蛍光を集光する。結合光学装置22では、ロングパスフィルタ23(例えば、色ガラスフィルタ、schott)が、反射励起光が検出器に入るのを阻止する。分光器は光を強化ダイオードアレイ26上に分散させる。ダイオードアレイ

26、電子装置およびコントローラ27は、例えば、Princeton Instrumentsによって製造されている。システムはまた、レーザ17および18の動作を制御するために使用されるゲートパルサ28を含む。レーザ17および18は、例えば、5ナノ秒のパルス期間を有する30Hz反復レートで制御され得るが、他の反復レートおよびパルス期間もまた受容され得る。

装置はまた、レーザ17および18を始動させ、研究中の組織試料の特徴付けを行うために集光ファイバ16によって集光される蛍光スペクトルを分析するよう動作する、プログラムされたコンピュータ29を含む。この制御および分析の詳細は、1996年7月19日出願の同時係属中の特許出願第08/666,021号に見い出され得る。この特許出願の開示内容は本明細書中に参考として援用される。

図2を参照して、マルチブルピクセル光プローブを用いて、本発明を具現化する装置を開示する。マルチブルピクセル光プローブの例示的実施形態を、図6～図12を参照して以下により詳細に示す。装置は、励起光ファイバ22と収光光ファイバ23とを組み込んだマルチブルピクセル光プローブ21を備える。励起光ファイバ22は、照射源24からの光を受光するように接続されており、照射源24は、例えば、フィルタホイール27と組み合わされたキセノンランプ26であり得る。ここでも、例えば図1を参照して開示したレーザ源を含む他の照射源もまた使用可能である。図1の装置の場合のように、照射源24は、組織の特徴付けを可能にする、組織内に蛍光を生成する能力によって選択されている周波数で、光を生成する。

プローブ21からの集光ファイバ23は検出器28に接続されており、検出器28は、例えば、撮影スペクトログラフ29(例えば、Chromex 250 IS)と、CCDアレイ31(例えば、熱電冷却CCD Princeton Instruments EV 578×384)とを備える。検出器28の出力は、コンピュータ32に付与される。コンピュータ32は、照射源24を制御するように、且つ集光ファイバ23により集光されて検出器28により検出された蛍光スペクトルを、例えば上記の同時係属中の出願に記載されている分析方法を用いて分析するようにプログラムされている。

### 子宮頸管形態

図3 A～図3 Fに、子宮頸管の口および周囲の組織の断面を示し、子宮の扁平上皮(S E)、円柱上皮(C E)、および移行帶(T Z)の位置を、成熟の様々な段階において及び様々な医学的状態に関して示す。特に、図3 Aは新生児の子宮を示し、図3 Bは初経前の子宮を示し、図3 Cは初経期の子宮を示し、図3 Dは月経期の子宮を示し、図3 Eは閉経期の子宮を示し、そして図3 Fは閉経後の子宮を示す。見られ得るよう、移行帶(T Z)は、子宮頸内膜上(例えば、月経期、図3 D)または子宮頸管のかなり内部(例えば、閉経後、図3 F)、またはその間のいずれの部位にも現れ得る。C I Nおよび化生の最も一般的な位置は、移行帶またはその近傍であるため、移行帶が蛍光分光法を行う際に造影されることは重大である。これは閉経期および閉経後に特に重要である。なぜなら、ほとんどの子宮頸癌はこの年齢で起こるからである。これは、移行帶が子宮頸管の最も奥にあるときである。

子宮頸管の形態学の他の概略的な観察は、留意する価値がある。漏斗型開口部に続く子宮口の後、子宮頸管は広がり、内部口で再び小さくなる。子宮は、内部口後、小さい角度で最大サイズまで開く。管の内部は、ポリープおよびシネキアなどの非腫瘍性の追加の組織で充填され得る。ポリープは管を充填し得る。萎縮が起こり得、その結果、壁が異常な形状になる(襞がなくなる)。さらに、LEEP処置の後、狭窄症が起こり得ることが知られている。

円柱上皮の襞は代表的には、深さ数センチメータであり、様々な形状を有する。例えば、子宮摘出術による除去後に調べられた1つの子宮において、襞は最高7.83mmであり、平均深さは3.38mmであった。襞は、2つの主要な方向、すなわち軸方向と管の軸に対して約30度の角度の方向、を有することが観察された。この松の木様形態の上部は、管の外方を指している。襞は、組織に強力に付着する粘液で満たされている。生理食塩水で流し落としても、粘液は除去されない。子宮粘液の蛍光特性の研究を図14および図15を参照して以下に述べる。

### 光プローブ

図4 Aおよび図4 Bは、本発明による図1の装置において用いられ得るシング

ルピクセルプローブ11である。図4Aを参照すると、光プローブ11は、可視光に対して実質的に透明であり更に紫外線をも透過させるフッ素化エチレンプロピレン(FEP)管材42内に充填された光ファイバ41の束を備える。ファイバ41を含むFEP管材42は、これもまたFEPから形成され得る第2の管材43内にフレキシブルに取り付けられている。管材43の外径は好適には、2mm未満であるが、他の寸法も用いられ得る。管43の外径は、主に、子宮頸管の解剖学的制約により決定され、そして図13を参照して以下により詳細に述べる。この寸法は、プローブが、子宮口に狭窄を有する子宮頸管内を通過することを可能にする。管材42内のファイバ41は、管材43を動かすことなく、いくつかの組織部位の試験を可能にするために、管材43内において回転し得且つ軸方向に設けられ得る。

FEPは、本発明の光プローブにおいて用いられる管材の材料として用いるために有用であることが証明されているが、例えば、ポリテトラフルオロエチレン(PTFE)、ガラスおよび石英などの他のプラスチックを含む、他の材料もまた使用可能である。

図4Aおよび図4Bの実施形態において、大直径ファイバ45の短片がリフレクタとして用いられ、そしてファイバ45の端面47は、プローブ11の軸に対して傾斜した角度(例えば40度)に研磨されている。全内部反射のために、ファイバ41により研究中の組織試料方向(図4Aにおける下向きの方向)に発する光の反射、および組織試料によりファイバ41方向に戻る光の反射が起こる。研磨された金属、ガラス、またはサファイアなどの角度を有する鏡面を用いて、別のリフレクタが形成され得る。

図4Bは、図4Aの4B-4B線に沿った断面図であり、ファイバ41の構造を示す。例示的実施形態においては、7本のファイバ41(6本の照射ファイバ48~53と、1本の集光ファイバ54)があるが、任意の数のファイバが用いられ得る。例示的実施形態において、照射ファイバ48および51は337nm用に用いられ、ファイバ49および52は380nm用に用いられ、ファイバ50および53は460nm用に用いられ、集光ファイバ54は蛍光分光法のためのシングルピクセル収光を提供する。本発明の範囲から逸脱することなく、照射

および集光ファイバの任意の組み合わせも用いられ得ることに留意すべきである。例えば、3本の照射ファイバと1本の集光ファイバとが用いられ得、3本の照射ファイバと3本の集光ファイバとが用いられ得、1本の照射ファイバと1本の集光ファイバとが用いられ得、照射および収光の両方の目的のために1本のファイバが用いられ得るなどである。ファイバ48～54は、例えばタイプSFS320/385T光ファイバであり得、そしてファイバ46はタイプSFS1500/1650N光ファイバであり得る。両方とも、Fiber guide Industriesより入手可能である。しかし、他のタイプもまた用いられ得る。シングルピクセルの実施形態は、単一の実質的に梢円形の測定および照射スポットまたはピクセルという結果になる。

墻の外側に延びるプローブ11の一部は、好ましくは、マーキングを備えた剛直性のチューブを有し、このマーキングは、プローブを軸方向および回転方向に位置決める補助として使用され得る。生理食塩水溶液は、試験手法の前または間に、プローブ11の先端62における開口部61から流出し得る。

図5は、本発明のシングルピクセルプローブの他の実施形態である。図5を参照すると、プローブ11は、図4Aの実施形態と同様のファイバ束41を有する。ファイバ41の端部から発せられる光は、レンズ66によって集光され、反射表面67によって研究中の組織試料68に向かって反射される。同様に、組織試料68によって発せられる光は、レンズ66によって集光され、反射表面67によってファイバ41に向かって反射される。他の構造の詳細は、実質的に図4Aと同様である。

ここで、図6および図7を参照すると、図2の装置に使用され得るリング光プローブ21が開示される。プローブ21は、リング形状で同軸上に配置された多数の光ファイバ72を有する。1つの実施形態において、ファイバ72は1つおきに照射に用いられ、残りのファイバは集光に用いられる。あるいは、各ファイバ72は、照射および集光の両方に用いられ得る。図10および図11の実施形態において、照射光および集光の反射は共に、研磨された反射面74を有する金属プラグ73によって行われる。あるいは、サファイア先端部81が、図8に示すように用いられ得る。さらに他の実施形態において、ファイバ72の端部は、

図9に示すように開裂および研磨され得る。図9の実施形態において、1つおきのファイバは照射ファイバとして用いられ、残りのすべてのファイバは、集光ファイバである。これにより、隣接したファイバ(例えば、ファイバ7'2"および7'2'')は共に作用し、単一の組織領域77を照射して検出することになる。あるいは、ファイバ72のそれぞれは、照射および集光の組合せ機能を有し得る。明確にするため、周りのチューブは、図9の実施形態において図示されていないことに留意されたい。

リングプローブ21のすべての実施形態において、光は、ファイバ72から、プローブ21の外壁に隣接して配置された組織試料に向かって反射され、そして組織試料によって発せられる光は、ファイバ72に向かって反射される。この結果、複数の実質的に橿円形の測定および照射スポット、またはリング形状に分布したピクセルとなる。

図6、図7および図8のリングプローブ21の実施形態は、チャネル76を含み得、試験前または試験中に、試験される組織を生理食塩水で洗浄することを可能にする。プローブ21の直径は、例えば、約2.8mmであり得るが、他の直径でもよい。

ここで、図12Aおよび図12Bを参照すると、図2の装置において使用可能な光プローブ21のさらに他の実施形態が暗示される。図12Aおよび図12Bの光プローブ21はラインプローブである。プローブ21は、研究中の組織試料を照射するように作用する照射器と、研究中の組織試料によって発せられる光を集光するように作用する集光器とを有する。例示的な実施形態における集光器は、19100のマイクロメータ光ファイバ122(Fiberguide Industriesから入手可能なタイプSFS100/110T)から形成されるが、任意の数の光ファイバが用いられ得る。開示される実施形態において、蛍光の集光は、集光ファイバ122の1つを用いて1.5mm毎に起くる。集光ファイバ122は、ファイバ122の長軸に対して斜めの角度(例えば、40°)で研磨される。集光ファイバ122の端部123は、図12Aに示すように、プローブに沿って異なる軸位置に配置される。例示的な実施形態において、これは、約2.5cmの長さのラインに沿って1.5mm毎に同時の集光を成し遂げる。

## 図

12Aのラインプローブ21の直径は、約3mmであるが、他の直径もまた許容可能である。

図12Aのプローブ21の照射器は、拡散器124を有する。拡散器124は、ファイバ127の束の頂部に取り付けられる。ファイバ127は、Fiberguide Industriesから入手可能なタイプSFS200200マイクロメータ光学ファイバであり得るが、他のタイプのファイバも許容可能であり得る。拡散器124の270度にわたる反射コーティング128によって、プローブ21の周囲約90度にわたって方向づけられた照射が可能になる。拡張器124は、例えば、Rare Earth Medicalから入手可能である。

拡散器124は、可視光そしてまた紫外線に実質的に透明であるFEP管材131中に充填される。管材131内には、集光束122、プローブ中のポート133に生理食塩水を搬送するために用いられる拡散器124および洗浄(flush)チャネル132が含まれ、試験前または試験中に組織を洗浄することを可能にする。管材131の外径は、好ましくは、3mm未満であるが、他の直径もまた、許容可能であり得る。これによって、プローブは、大抵の子宮頸管内を通過することができる。

プローブは、子宮頸管に手動で配置される。プローブ全体が剛直性のため、最小の屈曲度を保持しながら、子宮頸管の壁に対して押し付けられ得る。

100ミクロンファイバ122が集光に用いられるので、図12Aの例示的な実施形態における各測定されたスポットまたはピクセルのサイズは、約0.5mよりも小さい。この直径は、組織までの集光ファイバ122の距離に依存する。この距離は、すべてのファイバに対して一定である必要はなく、代表的には、約0.3から1mmまで変化する。

照射光は、集光ファイバ122によって垂直に透過する。従って、これらのファイバ122のジャケットは除去されなければならない。次に、集光ファイバ122は、円筒形レンズとして作用する。

ここで、図13を参照すると、頸部のサイズの研究結果がグラフ形式で示される。本発明に使用されるプローブの設計は、内管の特性に依存するため、子宮頸管の幾何学的局面を検討した。MD Anderson Cancer Cen

terにおける362名の患者のデータベースは、子宮口の直径の測定値を含んでいた。得られた直径は、LEEPまたはLEEPコーン処置前の子宮頸管を測定するためにMD Andersonで使用された拡張器のサイズに基づいている。狭窄が起こっていないことを確かめるために、次の健康診断の訪問の際に、内管は再びチェックされる。このパラメータを、同様の結果を有する他のシリーズの22人の患者において測定した。

図13より、子宮頸管が、平均直径が5mmの外部口を有することが理解できる。大抵の患者において、外部口は、3mmよりも大きく、そして7mmよりも小さい。内管の長さを、子宮摘出術によって除去された子宮から評価した。子宮頸管は、約4cmの長さであることが測定された。これらの機械的な寸法は、次いで、本発明において用いられる光プローブのサイズを決定する際に考慮され得る。例えば、図13のグラフに反映される研究は、単一のサイズのプローブがすべての患者に対して用いられる場合、光プローブが、好ましくは、3mm未満の直径であればよいことを示している。勿論、異なるサイズのプローブを用いてもよい。

さらに、子宮頸管内の粘液の可能な影響を決定するために、数個の粘液試料の伝送および蛍光を測定した。結果を図14および15にグラフ形態で示す。これらのグラフを生成するために、少量の粘液を10mlの通常の緩衝化生理食塩水溶液中に希釈し、1cmのパス長において。

図14および15からわかるように、粘液の最も強い発光は、280nmにおける励起を用いて340nm発光である。これは、本発明の開示した実施形態例により行われる測定を妨害しない。

さらに、FEP管材(本発明のプローブのハウジングとしての使用に現在好適な材料)の伝送および蛍光を測定した。結果を図16および17に示す。図16および17からわかるように、FEP管材の蛍光は低い。しかしFEP管材の自

発蛍光は、337 nm励起における組織蛍光の約1/10である。320 nm励起において400 nmの主発光ピークが存在する。以下により詳細に述べるように、この寄与はプローブ較正手順において対応可能であることが決定された。

### 臨床手順

臨床用途において、本発明は、例えば子宮頸管の組織などの、上皮内臓組織の特徴付けを目的とする。一般に、子宮頸管組織の特徴付けに適用される場合、本発明は、a)子宮底部から子宮頸管に広がる病変の同定；b)子宮頸管の内部に位置する場合の移行帯の位置の検出；およびc)子宮頸管内部における円柱が関与する扁平上皮病変の同定を目的とする。一般に、これらの目的は、頸管組織の内面の実質的に円柱状の領域にわたって子宮頸管の内部の空間的に解像された位置における蛍光スペクトルを測定し、そして数学的モデルを用いてその組織を測定されたスペクトルの関数として特徴付けることにより達成される。

臨床手順を開始する前に、測定機器を較正するべきである。(例えば図1および2に示すような)本発明を較正するために、励起なしで、装置の暗電流を反映するバックグラウンドシグナルを得る。このバックグラウンドを記憶し、蛍光測定値から自動的に減算する。次に、例えば滅菌されたH<sub>2</sub>Oを含有する茶色の瓶にプローブを入れて励起光をオンにして蛍光スペクトルを測定することにより、プローブの自発蛍光を決定する。このシグナルは組織蛍光から減算されないが、所望であれば減算されてもよい。較正を確認するために、標準的なローダミン溶液(O.D. 0.446725(=550nm, 1cmパス長))を測定してもよい。以前の臨床研究により、ローダミンは扁平上皮頸管組織蛍光の約2倍の強度を有することが示されている。

組織のスペクトル測定の間、シグナル対ノイズ比の改善が望まれる場合は、スペクトルを380および460 nmにおいてそれぞれ100回および200回累積してもよい。337 nmにおいては、50回の累積で十分であることが示された。ただし、他の方法を用いてシグナル対ノイズ比を改善してもよい。3つの波長全てについて、対応する累積値を用いて異なるバックグラウンド減算ファイルを用いてもよい。

臨床手順の間、全体の子宮頸管の実質的に円柱状の表面に沿って約1.5mmの空間的解像で、3つの励起波長における蛍光スペクトルを得ることが望ましい。これは、図1または2の装置のいずれかを用い、図4～12の光プローブのいずれかを用いることで達成し得る。手順に際して、プローブの外側ハウジングを設置

し、子宮頸管の内部口まで前進させる。次に蛍光測定を開始する。シングルピクセルプローブ(図4および5)の場合、單一の測定ピクセルを、ハウジング内において軸方向的および角度的の両方で前進させることにより、実質的に円柱状の組織表面にわたって十分な数のピクセルのイメージをとる。リングプローブ(図6～11)を用いる場合、ピクセルの測定リングを軸方向に前進させることにより、実質的に円柱状の組織表面にわたって十分な数のピクセルのイメージをとる。最後に、ラインプローブ(図12)を用いる場合、ピクセルの測定ラインを角度的に増加していくことにより、実質的に円柱状の組織表面にわたって十分な数のピクセルのイメージをとる。例えば、ラインプローブを用いる場合には、12、3、6および9時方向の各々において(すなわち90°毎につき)1つずつ、4つの個々の測定値を得る。この手順を完了するために約3分間を要する。

手順の前または手順の間のいずれかで、測定部位から粘液または血液あるいはゆるんだ組織を除去することで測定精度を改善する可能性のため、生理食塩水溶液を組織上に流してもよい。

一般に、子宮頸管側部における第1の標本の周縁部が形成異常または癌を有しておらず、かつ第2の標本が変化を示さなければ、頸管は正常状態にあると考えられ得る。この周縁部に変化が起こっていれば、頸管の最初の5mmが異常状態にあると考えられ得る。子宮頸管標本の周縁部が変化を含まなければ、周縁部は2cmより深くは延びていないと考えられ得る。この標本が異常細胞を示していれば、頸管中の測定値は5mm以降も異常であったと考えられ得る。第2の標本が変質形成(metaplasia)であるとマークされれば、移行帶は子宮頸管の内部にあることが考えられ得る。第1の標本が変質形成を示していれば、移行帶は、口あるいは子宮腔部周辺に位置している。

図18、19および20は、本発明の方法および装置を用いて、数人の異なる

患者の子宮頸管からインビボで得られた、規準化された蛍光強度スペクトルのグループを示している。特に、図18は337nm励起を用いて得られた正規化蛍光強度スペクトルのグループであり、図19は380nm励起を用いて得られた規準化蛍光強度スペクトルのグループであり、そして図20は460nm励起を用いて得られた規準化蛍光強度スペクトルのグループである。

上記の開示に基づき、本発明のこれらおよびその他の特徴および利点が、当業者に明らかになるであろう。また、発明の範囲から逸脱することなく、開示した実施形態に追加、削除、および変更を行い得ることが、理解されるであろう。

#### 参考文献

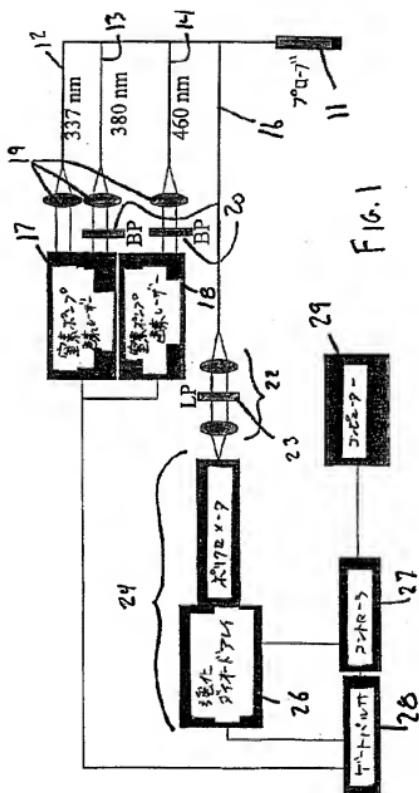
以下の参考文献は、本明細書中に記載された例示の実験の詳細または情報を補足する例示の実験の詳細またはその他の情報を提供する範囲で、本明細書に参考として援用される。

1. Wright TC, Kurman RJ, and Ferenczy A in Pathology of the Female Genital Tract (eds. A. Blaustein), 156-177, Springer-Verlag, New York (1994).
2. Barron BA, Richart RM, "Statistical model of the natural history of cervical carcinoma: II. Estimates of the transition time from dysplasia to carcinoma in situ," JNCI 45: 1025-1030 (1970).
3. Burke L, Antonioli DA and Ducatman BS., Colposcopy, Text and Atlas, Appleton and Lange, Norwalk CT (1991).
4. Mitchell MF, "Diagnosis and Treatment of Preinvasive Disease of the Female Lower Genital Tract" The Cancer Bulletin, 42: 71-76 (1990).
5. Reid R, Stanhope CR, Herschman BR, Crum CP, Agronow SJ, "Genital warts and Cervical cancer," Am J Obstet Gynecol, IV: 815-823 (1984).
6. Reid R, Scalzi P, "Genital Warts and Cervical Cancer," Am J Obstet Gynecol, 153(6): 611-618 (1985).
7. Barrasso R, Coupez F, Ionesco M, DeBrux J, "Human Papilloma Viruses and Cervical Intraepithelial Neoplasia: The Role of Colposcopy," Gynecologic Oncology, 27: 197-207 (1987).
8. Alfano RR, Pradhan A and Tang CG, "Optical spectroscopic diagnosis of cancer in normal and breast tissues," J Optic Soc Am B, 6: 1015-1023 (1989).

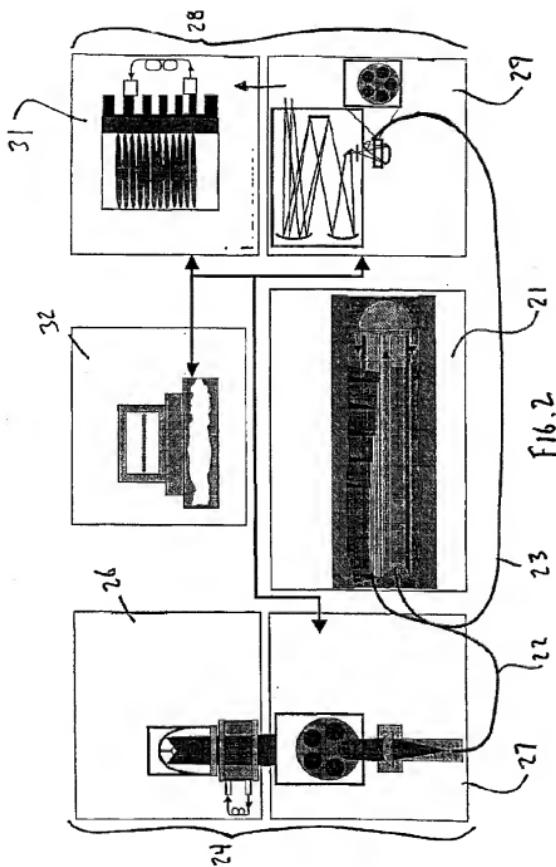
9. Andersson ES, Johansson J, Svanberg K and Svanberg S, "Fluorescence imaging and point measurements of tissue: applications to the demarcation of malignant tumors and atherosclerotic lesions from normal tissue," *Photochem Photobiol*, 53: 807-14 (1991).
10. Richards-Kortum RR, Rava RP, Petras RE, Fitzmaurice M, Sivak MV and Feld MS, "Spectroscopic diagnosis of colonic dysplasia," *Photochem Photobiol*, 53: 777-786 (1991).
11. Rava RP, Richards-Kortum RR, Fitzmaurice M, Cothren RM, Petras RE, Sivak M and Feld MS, "Early detection of dysplasia in colon and urinary bladder tissue using laser-induced fluorescence", *Optical methods for tumor treatment and early diagnosis: mechanisms and technique*, SPIE 1426: 68-78 (1991).
12. Wong PTT, Wong RK, Caputo TA, Godwin TA and Rigas B, "Infrared spectroscopy of human cervical cells: Evidence of extensive structural changes during carcinogenesis," *Proc Natl Acad Sci USA*, 88: 10988-10992 (1991).
13. Alfano RR, Lui CH, Sha WL, Zhu HR, Akins DL, Cleary J, Prudente R and Celmer E, "Human breast tissues studied by IR fourier transform Raman spectroscopy," *Lasers in Life Sc*, 4: 23-28 (1991).
14. Baraga JJ, Feld MS and Rava RP, "Rapid near-infrared Raman spectroscopy of human tissue with a spectrograph and CCD detector," *Appl. Spectr*, 46: 187-190 (1992).
15. Schomacker KT, Frisoli JK, Compton CC, Flotte TJ, Richter JM, Nishioka NS and Deutsch TF, "Ultraviolet laser-induced fluorescence of colonic tissue: Basic biology and diagnostic potential," *Lasers in Surg Med*, 12: 63-78 (1992).

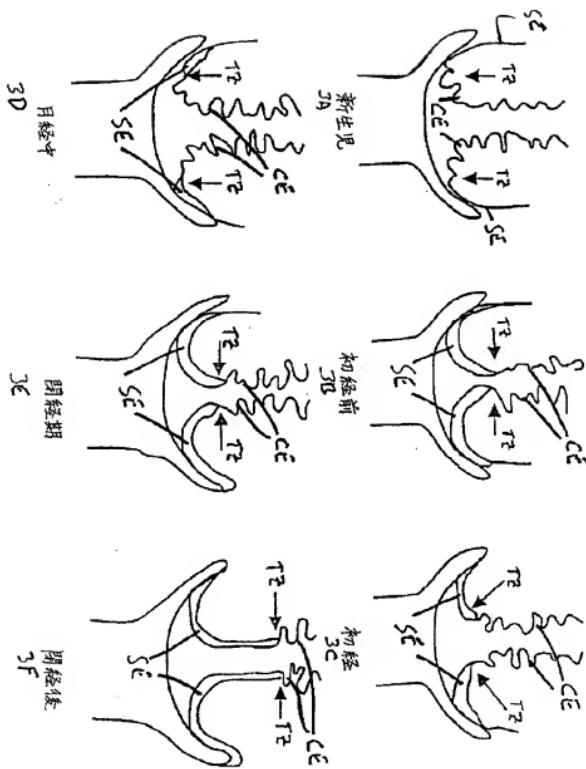
16. Mahadevan A, Mitchell MF, Thomsen S, Silva E and Richards-Kortum RR, "A study of the fluorescence properties of normal and neoplastic human cervical tissue," *Lasers Surg Med* 13:647-655, (1993).
17. Ramanujam N, Mitchell MF, Mahadevan A, Thomsen S, Malpica A, Wright TC, Atkinson, N and Richards-Kortum; *In Vivo Diagnosis of Cervical Intraepithelial Neoplasia Using 337 Excitation*, *PNAS* 91:10193, (1994).
18. Ramanujam N, Mitchell MF, Mahadevan A, Thomsen S, Richards-Kortum RR, "Spectroscopic Diagnosis of Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN) in vivo Using Laser Induced Fluorescence Spectra at Multiple Excitation Wavelengths," *Lasers Surg Med*, (in press) (1996).
19. Brookner CK, Agrawal A, Trujillo EV, Mitchell MF and Richards-Kortum RR, "Relative Risk of UV-Fluorescence Spectroscopy and Endoscopy are comparable," *24th. Annual Meeting of the American Society for Photobiology, Photochem Photobiol Supp.* (in press) (1996).

【図1】

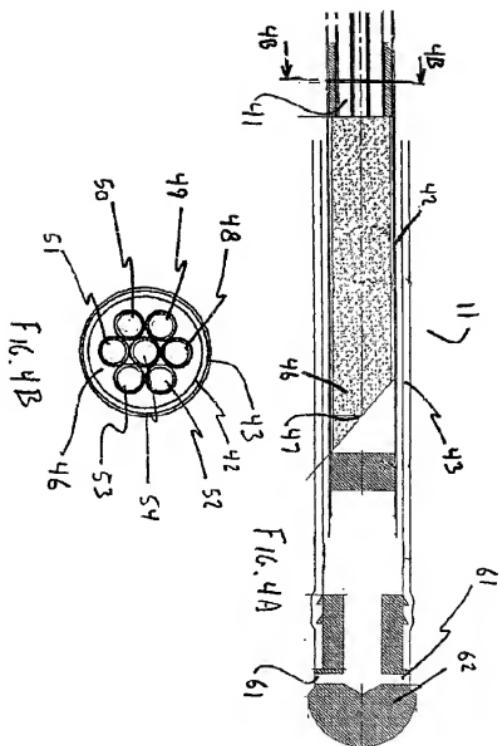


【図2】



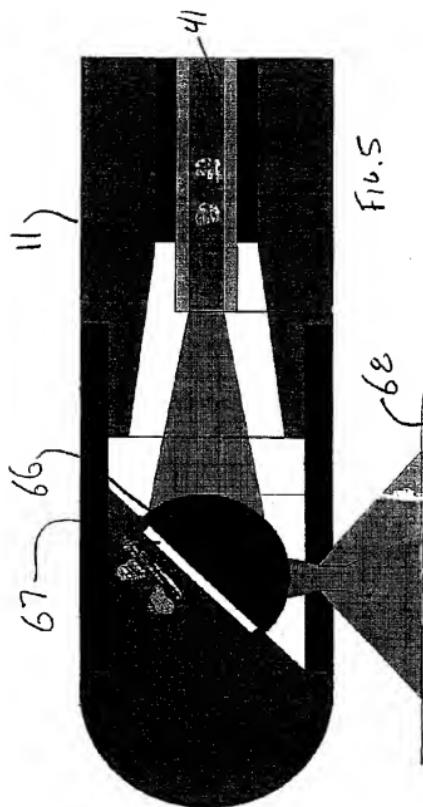


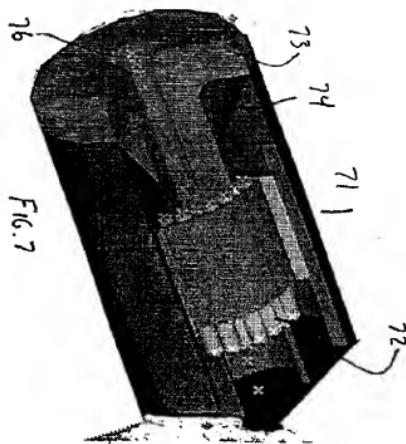
【図3】



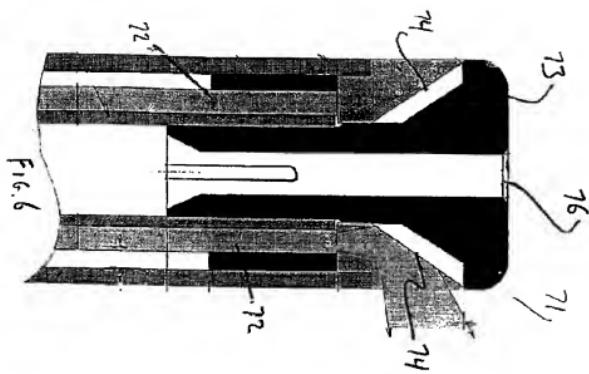
【図4】

【図5】



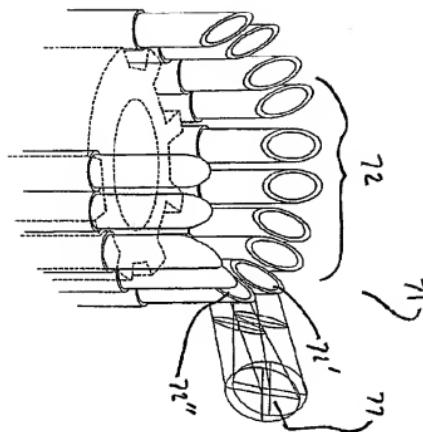


【图7】



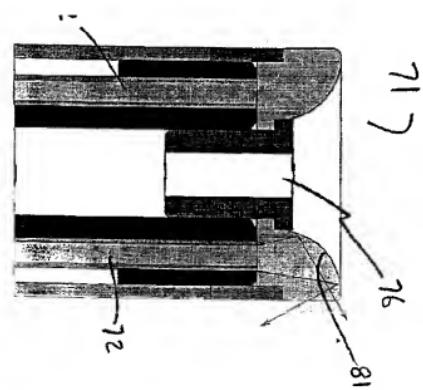
【图6】

Fig. 9



【图6】

Fig. 8



【图8】

【図10】

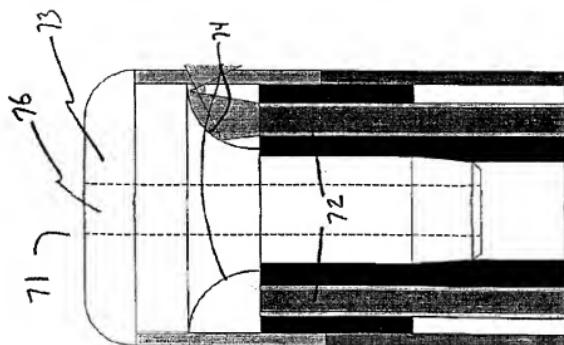


Fig.10

【図11】

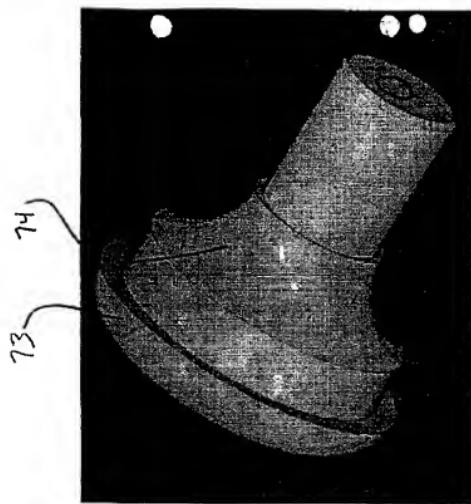
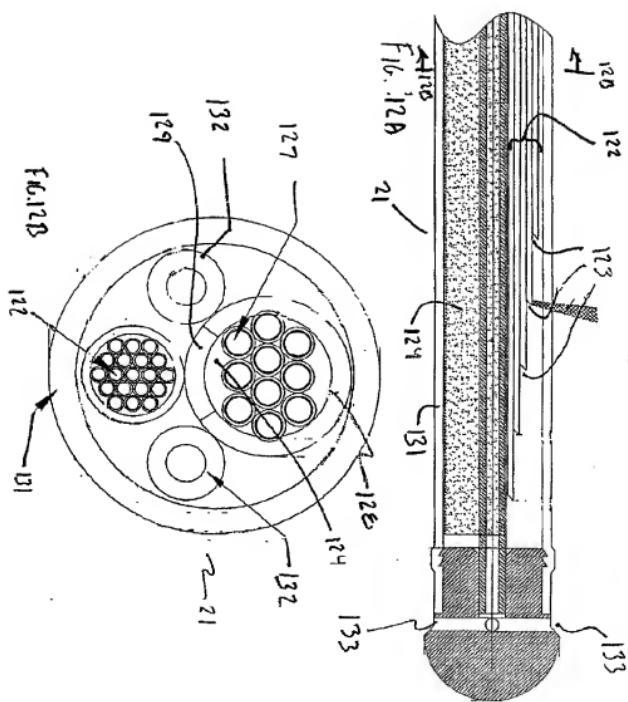


Fig.11

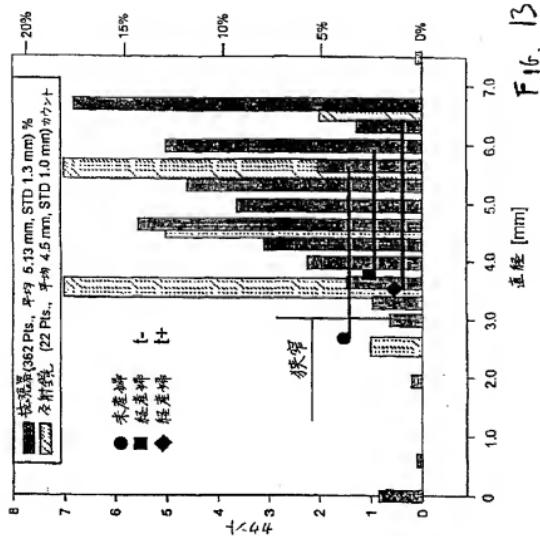


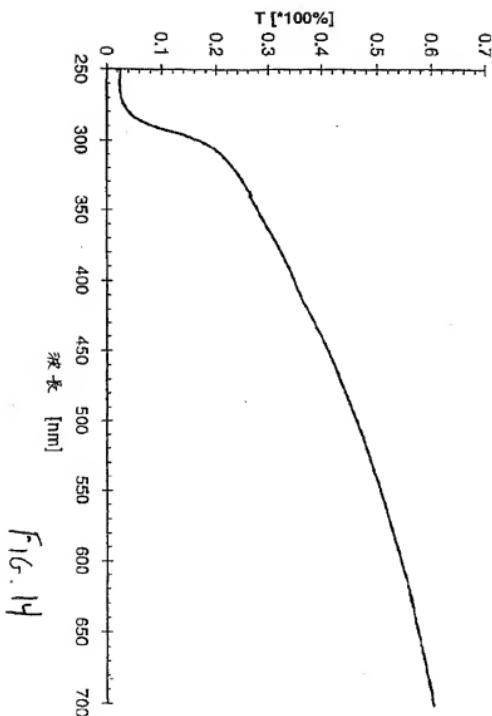
【图12】

特許2000-515407

(31)

### 【図13】





【図14】

(33)

特許2000-515407

【图 15】

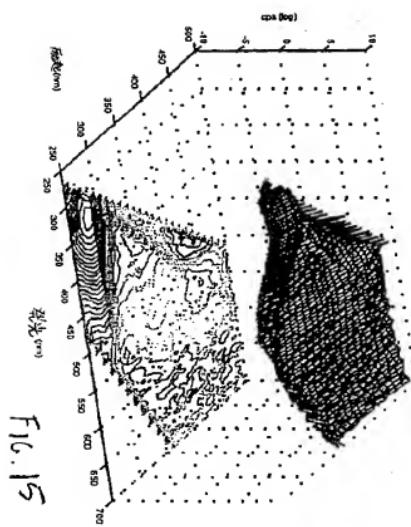


Fig. 15

【図16】

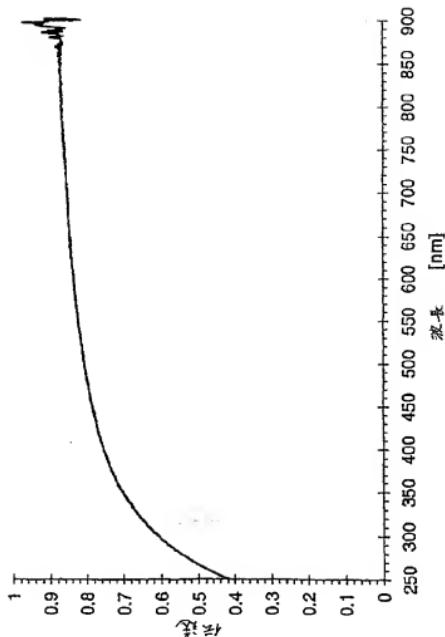
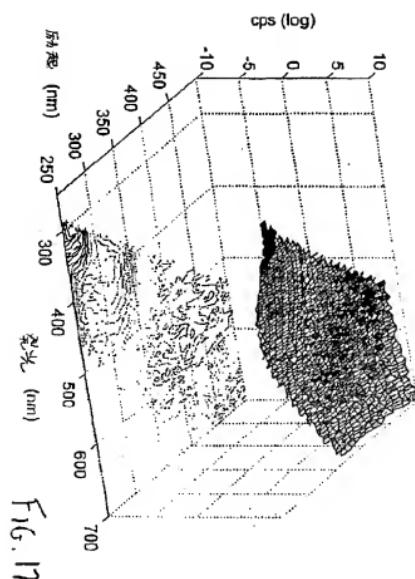


Fig. 16

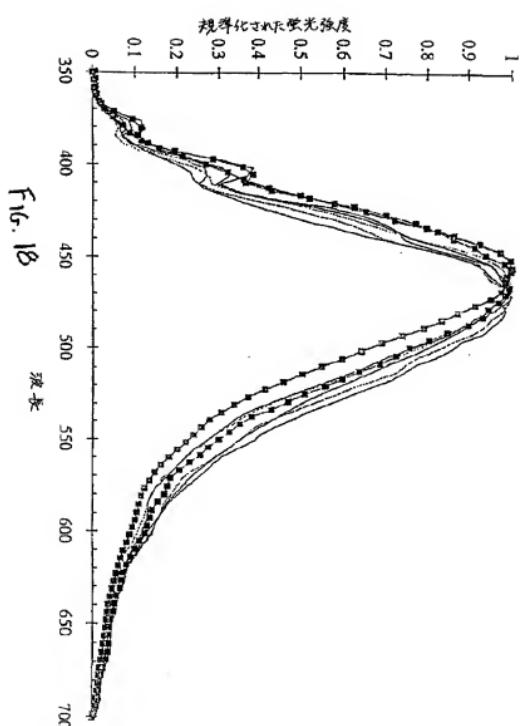
【图17】

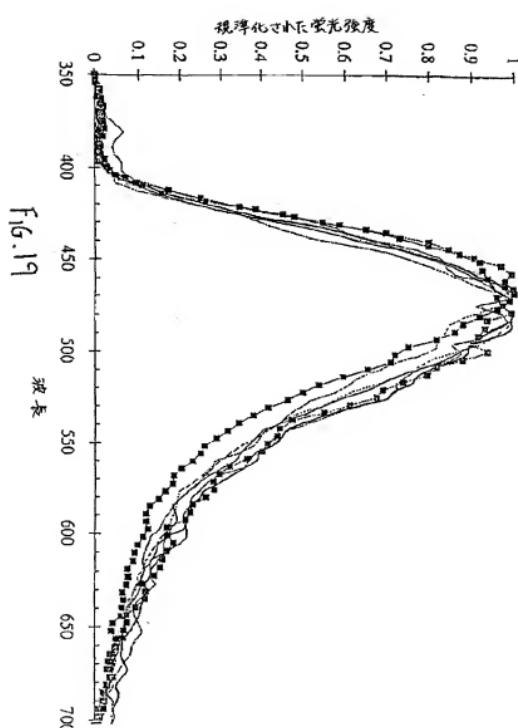


(36)

特表2000-515407

【図18】





【図19】

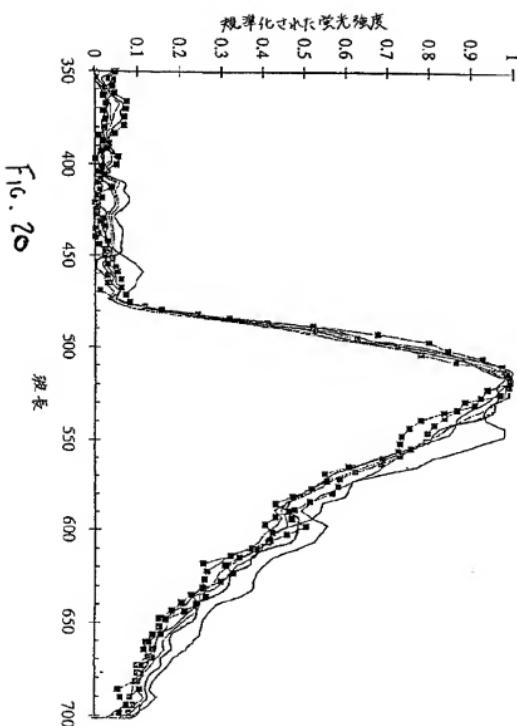
(38)

特許2000-515407

&lt;div[](./img/20.png)

&lt;div

&lt;div[](https://img.zhenai.com/feicui/2000-515407.png)



## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No PCT/US 97/13300
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 A61B5/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 A61B		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are indicated in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 94 25168 A (UNIVERSITY OF TEXAS) 24 November 1994 see page 5, line 35 - page 7, line 31 see page 12, line 10 - page 13, line 20 see page 14, line 9 - page 16, line 13	1,7,10 11,14
X	US 5 450 857 A (R.E. GARFIELD) 19 September 1995 see column 2, line 49 - column 3, line 44 see column 4, line 50 - column 5, line 15 see column 8, line 12 - line 28 see column 9, line 1 - line 16	1,7,8 5,14
X	US 5 456 260 A (N. KOLLIAS) 10 October 1995 see column 1, line 64 - column 2, line 32 see column 3, line 23 - column 5, line 46	14 1,7,9,10
	---	---
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents:		
*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		
*B* earlier document or documents published on or after the international filing date		
*C* document which may throw doubts on priority claim(s) or document in question or document which may be used together with another document as evidence of priority (merit of prior publication)		
*D* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		
*E* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
6 October 1997		24/11/1997
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. 5816 Patenten 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 543-5040, Tx. 31 551 epo nl, Fax (+31-70) 510-2616		Authorized officer
		Rieb, K.D.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

C(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		Initial Application No PCT/US 97/13300
Category		Relevant to claim No.
P,X	WO 96 28084 A (UNIVERSITY OF TEXAS) 19 September 1996 see page 2, line 34 - page 4, line 23 see page 9, line 12 - page 11, line 13 -----	1,2,7-14
A	A. MAHADEVAN ET AL.; "Optical Techniques for the Diagnosis of Cervical Precancers" SPIE, vol. 2388, 1995, pages 110-120, XP002042626 see page 110, line 1 - page 112, line 12	1,2,7-9, 11-13
A	WO 96 02184 A (WASHINGTON RESEARCH FOUNDATION) 1 February 1996 see page 3, line 30 - line 36 see page 6, line 26 - page 7, line 13 see page 11, line 13 - page 12, line 13 -----	1,3,5,14

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No  
PCT/US 97/13300

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9426168 A	24-11-94	US 5421339 A AU 6946594 A CA 2162922 A EP 0702526 A JP 8511179 T US 5623932 A	06-06-95 12-12-94 24-11-94 27-03-96 26-11-96 29-04-97
US 5450857 A	19-09-95	AU 2550595 A CA 2190599 A EP 0759723 A WO 9531929 A	18-12-95 30-11-95 05-03-97 30-11-95
US 5456260 A	10-10-95	NONE	
WO 9528084 A	19-09-96	CA 2190374 A EP 0765134 A	19-09-96 02-04-97
WO 9602184 A	01-02-96	CA 2195075 A	01-02-96

## フロントページの続き

(72)発明者 ミッチャエル, ミシェル フォーレン  
アメリカ合衆国 テキサス 77004, ヒュ  
ーストン, ハーマン ドライブ ナンバー  
8 ビー 1111

(72)発明者 ウッジンガー, ウルス  
スイス国 ツェーハー 8184 バッヒエン  
プラッハ, ハルデン 25

